

BEST AVAILABLE COPY

Roche Diagnostics GmbH

Laborbuch Nr. LT 823/1

Dieses Laborbuch ist die Fortsetzung von Laborbuch Nr. LT 544/1 Datum 27.10.00

Ausgegeben an _____ am _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Zurück an _____ am _____ von _____

Fortsetzung dieses Laborbuchs erfolgt in Laborbuch Nr. LT 942/1 Datum 22.7.07

T

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 1

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

Stabilität von PEG-EPOStart: 24. November 1999

PEG-EPO: Ch.1109, in 10mM Na/KP, 100mM NaCl, pH 7.5 c = 0.65 mg/ml
 Tween 80, Nr. 34475, Serva
 Tween 20, Nr. 34470, Serva
 10 ml Glasflaschen, Id.-Nr. 0694169
 Gummistopfen, Id.-Nr. 1863576-0001

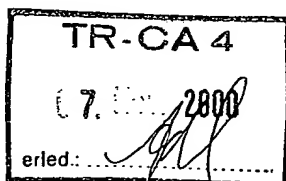
- alle Lösungen wurden vor Einlagerung in sterile 10 ml Glasflaschen mit
 Gummistopfen sterilfiltriert (0.22 µm)

Variationen:

Puffer: 1.) 10mM Na/KP, 100mM NaCl, pH 7.5 (Bulkpuffer), 227_mOsmol/kg
 2.) 10mM Na/KP, 100mM NaCl, pH 7.5 + 0.01 % Tween80
 (Bulkpuffer + Tween)
 3.) 200mM Glycin, 28 mM Na₂HPO₄ x 12 H₂O, 4 mM NaH₂PO₄ x H₂O,
 10.3 mM NaCl, 0.8 mM Harnstoff, 7.5 µm CaCl₂ x 2 H₂O,
 15.3 mM L-Leucin, 15.3 mM L-Isoleucin, 4.2 mM L-Threonin
 3.4 mM L-Glutaminsäure, 3 mM L-Phenylalanin (→ pH 7.1)
 + 0.01 % Tween 20 („Marktpuffer“ + Tween), 319_mOsmol/kg

Konzentration: A.) 100 µg/ml
 B.) 10 µg/ml

Lagertemperaturen: - 4 °C (blaue Eppendorfcaps)
 - 25 °C (grüne Eppendorfcaps)
 - 40 °C (rote Eppendorfcaps)



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum
		Schwall	05. Sep. 2001

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 2

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

Analytik:

1. Methode

RP - HPLC

Säule: Vydac Protein C4, 4.6mm x 150mm, Best.Nr. 514TP54

Fluß: 1 ml/min

Detektion: 220 nm

Gradient:	min	%B
	3	0
	10	40
	35	60
	36	100
	41	100
	42	0
	50	0

Säulentemperatur: 32 °C

Eluent A: 0.13 % TFA

Eluent B: 84 % Acetonitril, 0.1 % TFA

TR-CA 4

07. Nov. 2000

erled.: _____

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum
		Schwallier	05. Sep. 2001

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 3

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

ab Mai 2000

2.Methode

Säule: Vydac Polymer, 4.6mm x 150mm, Best.Nr. 259VHP5415

Fluß: 1 ml/min

Detektion: 220 nm

Gradient:	min	%B
	3	30
	10	50
	30	70
	31	100
	36	100
	37	30
	47	30

Säulentemperatur: 40 °C

Eluent A: 0.13 % TFA

Eluent B: 84 % Acetonitril, 0.1 % TFA

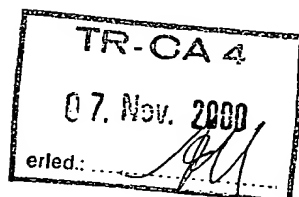
SEC

Säule: 2 x Superose 6, Ident.Nr.1213709, Fa.Pharmacia

Eluent: 50mM NaP, 300mM NaCl, pH 6.8

Fluß: 0.4 ml/min

Detektion: 220 nm



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift <i>Schwaller</i>	Datum 05. Sep. 2001

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 4

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

SDS-Page(Silberfärbung nach Blum):

- 8 - 16 % - Tris/Glycin - Gel (ohne SDS), Fa. Novex, Nr. E' 045
- SeeBlue Plus2 - Standard, Fa. Novex, Nr. LC5925
- Tris - Glycin - SDS - Sample - Puffer, Fa. Novex, Nr. I 2676
- Laufpuffer: 192mM Glycin, 25mM Tris, 0.1 % SDS
- Reduktion: 50 mM DTT, BM 1583786
- Probe 3 min bei 90 °C mit Sample - Puffer behandeln

Meßergebnisse:Reproduzierbarkeit:

c=0.1, n = 4 (3.26/3.23/3.20/3.24)

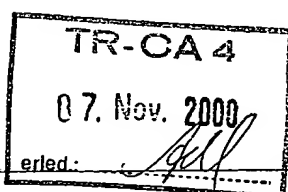
→ Std.abw.: 0.03

→ VK: 0.008

c=0.01, n = 4 (3.32/3.29/3.36/3.33)

→ Std.abw.: 0.03

→ VK: 0.009



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum
		Schwalbe	07. Sep. 2001

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 5

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

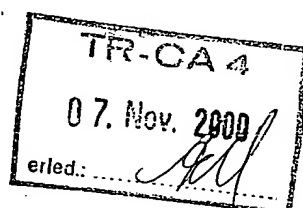
Wiederfindung PEG-EPO [%]:1. MethoderpHPLC

10 µg/ml

T	4 °C			25 °C			40 °C		
Puffer	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2 d	97	100	101	96	102	101	90	96	95
7 d	99	100	101	96	99	100	87	85	98
14 d	96	102	102	92	96	101	84	75	93
21 d	96	100	100	93	93	100	78	64	89
56 d	93	90	100	92	79	95	42	24	41
84 d	95	102	103	93	82	93	54	27	47

100 µg/ml

T	4 °C			25 °C			40 °C		
Puffer	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2 d	94	101	100	96	104	101	99	98	96
7 d	101	103	101	96	103	103	94	98	97
14 d	96	98	101	100	101	101	94	96	97
21 d	101	102	101	93	100	100	91	81	89
56 d	96	88	102	95	91	98	46	43	53
84 d	96	102	98	98	94	95	49	32	59



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift <i>Schwall</i>	Datum 03. Sep. 2001

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 6

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

2. Methode Beginn nach 9 Monaten (4 ° Wert wird als 100% gesetzt)rpHPLC

10 µg/ml

T	4 °C			25 °C			40 °C		
Puffer	1	2	3	1	2	3	1	2	3
270 d	100	100	100	86	71	78	25	10	25

100 µg/ml

T	4 °C			25 °C			40 °C		
Puffer	1	2	3	1	2	3	1	2	3
270 d	100	*	100	94	siehe*	83	k.P.	k.P.	10

* Lösung trüb

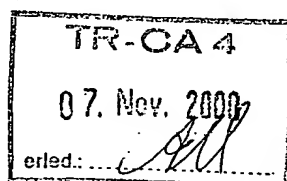
k.P. = keine Probe mehr vorhanden

Meßdaten abgelegt unter:

- MO-Disk\shimadzu\donald\doc1199\pegepo9

- tr-i_macintosh on Rpzms000023\tr-ca\data\2000_01....05\adlberga\chrom\shimadzu donald
bzw. daisyÜbersichtstabelle der Ergebnisse unter:

U_adlberga\doc00\doc0200\0.1(0.01)mgperml_stability_data_1_21_00.doc



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift <i>Schwall</i>	Datum 07. Sep. 2000

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 7

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

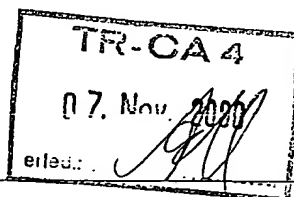
SEC
10 µg/ml

T	4 °C			25 °C			40 °C		
Puffer	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2 d	96	99	97	98	101	94	92	91	90
7 d	95	100	93	94	101	93	84	93	87
14 d	92	103	93	91	101	92	79	90	81
21 d	93	104	93	91	103	91	74	88	78
56 d	95	96	93	92	92	89	56	52	52
84 d	93	97	91	88	86	81	49	40	40
140 d	95	95	90	91	89	86	48	61	36
270 d	81	90	89	73	70	65	22	47	19

100 µg/ml

T	4 °C			25 °C			40 °C		
Puffer	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2 d	102	104	106	104	103	106	96	104	103
7 d	99	102	101	99	98	106	---	100	107
14 d	98	101	102	99	102	105	92	93	97
21 d	98	105	105	96	102	104	87	86	93
56 d	98	100	105	99	97	102	62	59	55
84 d	101	103	108	100	95	103	46	50	54
140 d	98	95	102	100	92	98	55	53	54
270 d	96	14*	102	83	69	78	---	---	10

*Lösung trüb



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift <i>Schwallier</i>	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 8

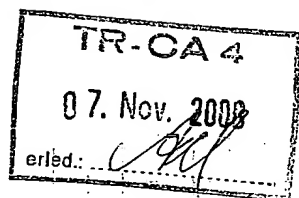
Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc99\doc1199\pegeop9.doc

Ausgang

nicht reduzierend

SeeBlue Plus2 Std. MW[kDa]	Bahn	Probe	Menge [µg]
Mysin 250	1	Std.	
Phosphorylase 148	2	leer	
BSA 98	3	100 µg/ml Bulkpuffer	1
Glutamin Dehydrogenase 64	4	10 µg/ml Bulkpuffer	0.1
Alcohol Dehydrogenase 50	5	100 µg/ml Bulkpuffer + Tw	1
Carbonic Anhydrase 36	6	10 µg/ml Bulkpuffer + Tw	0.1
Myoglobin Red 22	7	100 µg/ml Marktpuffer + Tw	1
Lysozyme 16	8	10 µg/ml Marktpuffer + Tw	0.1
	9	leer	
	10	leer	



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift <i>Schwall</i>	Datum

[illegible]

TR-CA 4

07. Nov. 2000

erled.:

Fortsetzung folgt auf Seite

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum
		Schwall	05. Sep. 2000

[illegible]

determined by western blotting

TR-CA 4

07. Nov. 2000

erlekt:

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift Schwallier	Datum 05 Sep. 2001

TITEL

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung _____

Projekt-Nr. _____

Seite 1

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0200\V000202pegepol1.doc

Stabilität von PEG-EPOStart: 03. Februar 2000Reagenzien:

- peg-EPO in 10mM Na/KP, 100mM NaCl, pH 7.0, Ch.2109, c = 1.72 mg/ml
- Na₂SO₄, Id.-Nr. 061476-001
- NaH₂PO₄ x H₂O, Id.-Nr. 013978-001
- Mannitol, Sigma M-8429
- NaOH, Id.-Nr. 0241962-001
- Benzalkoniumchloride, Sigma B-6295
- Benzylalcohol, Sigma B-1042
- 10 ml Glasflaschen, Id.-Nr. 0694169
- Gummistopfen, Id.-Nr. 1863576-0001

- alle Lösungen wurden vor Einlagerung in sterile 10 ml Glasflaschen sterilfiltriert (0.22 µm)

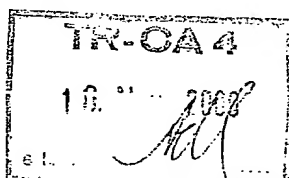
Variationen:Puffer:

- I.) 10mM NaP, 140mM Na₂SO₄, pH 6.2
- II.) 10mM NaP, 40mM Na₂SO₄, 4 % Mannitol, pH 6.2

+ = mit 0.002 % Benzalkoniumchloride und 0.4 % Benzylalcohol

Konzentration:

- A.) 100 µg/ml
- B.) 10 µg/ml



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum
		Schwallen	03. Sep. 2001

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 2

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0200\V000202pegepol1.doc

Lagertemperaturen:

- 4 °C (blaue Eppendorfcaps)
- 25 °C (grüne Eppendorfcaps)
- 30 °C (violette Eppendorfcaps)
- 40 °C (rote Eppendorfcaps)

Analytik: RP – HPLC

1. Methode

Säule: Vydac Protein C4, 4.6mm x 150mm, Best.Nr. 514TP54

Fluß: 1 ml/min

Detektion: 220 nm

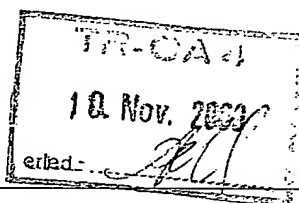
Gradient:	min	%B
	3	0
	10	40
	35	60
	36	100
	41	100
	42	0
	50	0

Säulentemperatur: 32 °C

Eluent A: 0.13 % TFA

Eluent B: 84 % Acetonitril, 0.1 % TFA

Benzalkoniumchlorid und Benzylalkohol eluieren bei 5, 9, 27 und 34 min (analog peg-EPO !!!)



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum
		Schwallier	10. Sep. 2002

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 3

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0200\V000202pegepol1.doc

ab Mai 2000

2.Methode

Säule: Vydac Polymer, 4.6mm x 150mm, Best.Nr. 259VHP5415

Fluß: 1 ml/min

Detektion: 220 nm

Gradient:	min	%B
	3	30
	10	50
	30	70
	31	100
	36	100
	37	30
	47	30

Säulentemperatur: 40 °C

Eluent A: 0.13 % TFA

Eluent B: 84 % Acetonitril, 0.1 % TFA

SEC

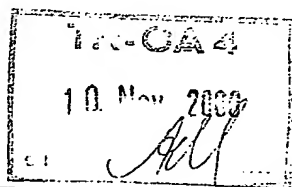
Säule: 2 x Superose 6, Ident.Nr.1213709, Fa.Pharmacia
 (nach ca. 600 Läufen hat sich ein Druck von ca. 60 bar
 aufgebaut → Druckspitzen im Chromatogramm;
 die erste Säule wird ausgetauscht)

Eluent: 50mM NaP, 300mM NaCl, pH 6.8

Fluß: 0.4 ml/min

Detektion: 220 nm

Benzalkoniumchlorid und Benzylalkohol behindern nach mehreren Läufen die
 Elution



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift <i>Schwalbe</i>	Datum <i>10. Mai 2000</i>

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 5

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0200\V000202pegepo11.doc

Meßergebnisse:Wiederfindung peg-EPO [%]
rp-HPLC (1.Methode)10mM NaP, 140mM Na₂SO₄, pH 6.2

	100 µg/ml				10 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
25 d	107	106	103	96	101	101	98	93

10mM NaP, 40mM Na₂SO₄, 4 % Mannitol, pH 6.2

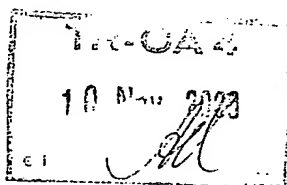
	100 µg/ml				10 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
25 d	100	101	100	97	100	100	100	96

SEC10mM NaP, 140mM Na₂SO₄, pH 6.2

	100 µg/ml				10 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
25 d	103	102	103	88	115	115	111	102
90 d	104	105	97	67	117	115	109	88

10mM NaP, 40mM Na₂SO₄, 4 % Mannitol, pH 6.2

	100 µg/ml				10 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
25 d	105	106	106	98	100	99	102	93
90 d	103	107	96	78	99	104	103	77



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum
		Schwallier	05. Sep. 2001

Roche Diagnostics GmbH

Laborbuch Nr. LT 1671/001

Dieses Laborbuch ist die Fortsetzung von Laborbuch Nr. LT 1526/001 Datum 31.1.05

Ausgegeben an (Dr. Stracke)
Hr. Adlberger am 31.1.05 Adlberger

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Übertragen an _____ am _____ von _____

Zurück an _____ am _____ von _____

Fortsetzung dieses Laborbuchs erfolgt in Laborbuch Nr. LT 1706/001 Datum 09.03.05

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 1 von 46

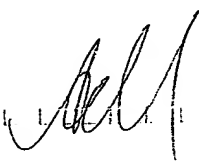
Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000301pegepo13.doc

pegEPO – Stabilität (36 Monate)Start: 01. März 2000Material:

- peg-EPO in 10mM Na/KP, 100mM NaCl, pH 7.0, Ch.6020, c = 1.68 mg/ml
- Tween 80, Code 27020921, Lot 1189945 (aus Nutley)
- Na₂HPO₄ x 12 H₂O, Merck 6579
- KH₂PO₄, Id.-Nr. 3344
- NaCl, Id.-Nr. 1772350001
- NaOH, Id.-Nr. 0241962-001
- Acetonitril, Fa. Baker, Nr. 9017
- TFA, Fa. Perkin Elmer, Nr.400003
- 10 ml Injektionsflaschen, DIN 58366,(Fiolax-Klarglas), Id.-Nr. 0694169
- Gummistopfen, grau, teflonisiert, Fa. Daikyo, 777-1/B2-40 Stopper, Lot number 960191
- Bördelkappen N20, Art.Nr. 220024, Fa. Ziemer
- Sterilfilter: -für Flüssigkeiten: SLGV 025, 0.22 µm, Millipore
- für Gase: Midisart 2000, 0.2 µm, Sartorius

- alle Lösungen wurden vor Einlagerung in sterile 10 ml Glasflaschen sterilfiltriert (0.22 µm) und auf dem Kopf stehend unter Lichtausschluß gelagert



22. Feb. 2001

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 2 von 46

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000301pegepo13.doc

Variationen:Puffer:

- 1.) 10mM K/NaP, 100mM NaCl, pH 7.0
- 2.) 10mM K/NaP, 100mM NaCl, 0.005 % Tween80, pH 7.0

Konzentration:

- A.) 400 µg/ml
- B.) 50 µg/ml

Lagertemperaturen:

- 4 °C
- 25 °
- 30 °C
- 40 °C
- zusätzlich wurden Proben mit N₂ (Verhinderung v. Oxidation) überschichtet

Analytik:RP – HPLC

Säule: Vydac Polymer, 4.6mm x 150mm, Best.Nr. 259VHP5415

Fluß: 1 ml/min

Detektion: 220 nm

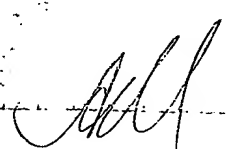
Gradient:	min	%B
	3	30
	10	50
	30	70
	31	100
	36	100
	37	30
	47	30

Säulentemperatur: 40 °C

Eluent A: 0.13 % TFA

Eluent B: 84 % Acetonitril, 0.1 % TFA

22. Feb. 2005



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 3 von 46

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000301pegepo13.doc

SEC

Säule: 2 x Superose 6, Code Nr.17-0537-01, Fa.Pharmacia

Eluent: 50mM NaP, 300mM NaCl, pH 6.8

Fluß: 0.4 ml/min

Detektion: 220 nm

SDS-Page:

- 8 - 16 % - Tris/Glycin – Gel (ohne SDS), Fa. Novex, Nr. EC6045
- Tris – Glycin – SDS - Sample – Puffer, Fa. Novex, Nr. LC2676
- Laufpuffer: 192mM Glycin, 25mM Tris, 0.1 % SDS
- Probe 3 min bei 90 °C mit Sample – Puffer behandelt
- Reduktion: 50 mM DTT, BM 1583786

*Meßdaten abgelegt unter:**- tr-i_macintosh on 'Rpzms000023'\tr-ca\dataakt\2000_01\adlberga\chrom\shimadzu\donald bzw.daisy**Oxidationsdaten abgelegt unter: U_adlberga\excel00**Übersichtstabelle der Ergebnisse unter:**U_adlberga\doc00\doc0200\pegepo11+13_0.01_0.05(0.1_0.4)_stability_data.doc*

22. Feb. 2001

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 4 von 46

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000301pegepo13.doc

Wiederfindung peg-EPO [%]

rp-HPLC

1.) 10mM K/NaP, 100mM NaCl, pH 7.0

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
3 m	102	100	96	89	114	106	106	89
6 m	99	87	97	82	112	109	99	75
9 m	101	95	93	75	107	103	94	66
12 m	103	98	92	67	114	102	84	65
15 m	94	89	84	65	105	84	71	56
18 m	96	90	81	60	99	85	75	43
21 m	96	88	77	51	110	89	55	38
24 m	93	88	76	50	94	87	62	42
27 m	93	87	75	44	100	85	62	38
30 m	114	98	46*	19*	99	77	13*	15*
33 m	104	93	n.d.	n.d.	99	79	n.d.	n.d.
36 m	111	99	n.d.	n.d.	94	74	n.d.	n.d.

2.) 10mM K/NaP, 100mM NaCl, 0.005 % Tween80, pH 7.0

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
3 m	102	95	96	81	100	93	92	64
6 m	102	97	93	71	90	88	79	48
9 m	100	93	86	61	98	74	66	42
12 m	102	94	86	63	97	80	60	40
15 m	96	87	73	51	95	69	50	27
18 m	96	89	72	47	97	72	42	23
21 m	95	83	65	39	94	57	37	20
24 m	95	82	66	43	95	63	37	20
27 m	93	82	66	41	95	k.P.	37	20
30 m	108	90	36*	24*	87	k.P.	17*	8*
33 m	102	90	n.d.	n.d.	87	k.P.	n.d.	n.d.
36 m	111	96	n.d.	n.d.	n.d.	k.P.	n.d.	n.d.

k.P.: keine Probe

22. Feb 2005



Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 5 von 46

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000301pegepo13.doc

SEC

1.) 10mM K/NaP, 100mM NaCl, pH 7.0

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
1 m	98	96	89	88	82	106	99	84
3 m	103	98	97	64	97	97	86	64
6 m	100	94	90	56	95	79	79	52
9 m	101	90	89	52	96	85	78	52
12 m	99	91	90	46	95	82	71	43
15 m	100	92	79	42	96	80	64	41
18 m	99	89	72	36	93	82	60	35
21 m	100	89	69	38	95	77	56	30
24 m	99	88	70	36	92	77	53	30
27 m	100	88	65	33	85	68	50	29
30 m	97	88	23*	13*	93	76	15*	17*
33 m	108	95	n.d.	n.d.	97	76	n.d.	n.d.
36 m	109	92	n.d.	n.d.	96	71	n.d.	n.d.

2.) 10mM K/NaP, 100mM NaCl, 0.005 % Tween80, pH 7.0

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
1 m	97	110	100	79	105	99	95	95
3 m	109	107	99	58	99	88	84	60
6 m	111	102	95	48	99	82	79	50
9 m	106	99	90	53	98	81	69	49
12 m	106	98	82	46	99	77	62	40
15 m	111	98	77	42	98	76	52	34
18 m	109	97	73	39	99	77	45	31
21 m	111	96	70	42	98	75	50	31
24 m	109	95	69	37	96	71	47	28
27 m	110	97	66	36	90	k.P.	43	26
30 m	103	95	24*	16*	99	k.P.	24*	20*
33 m	115	99	n.d.	n.d.	101	k.P.	n.d.	n.d.
36 m	118	103	n.d.	n.d.	n.d.	k.P.	n.d.	n.d.

Ausgangswert 2A unter V000604pegepo16sec6m.022a

N₂ - Werte (6 Monate/25 °C): 1A (95 %), 1B (86 %), 2A (112 %), 2B (108 %)

* 1 Woche vor Messung wurden die Proben durch einen Defekt der Brutkästen bei >=55 °C gelagert

n.d.: nicht durchgeführt

22. Feb. 2005

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

pegepo11+13_0.1_0.4_stability_data.doc

peg-EPO formulations (100/400 µg/ml) 4°C

time (month)	10mM NaP, 140mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 100 µg/ml	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 4% Mannitol, pH 6.2 100 µg/ml	10mM NaP, 100mM NaCl, pH 7.0 400 µg/ml	10mM NaP, 100mM NaCl, 0.005% Tween 80, pH 7.0 400 µg/ml
	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)
	SEC	SEC	SEC	SEC
	TP	TP	TP	TP
	SDS	SDS	SDS	SDS
1	103	n.d.	n.d.	97
3	104	n.d.	102	102
6	A	A	99	111
9	A	A	101	106
12	A	A	103	102
15	A	A	94	111
	A	A	-Ab	-Ab
	A	A		
	A	A		
	A	A		
	A	A		

25 °C

time (month)	10mM NaP, 140mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 100 µg/ml	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 4% Mannitol, pH 6.2 100 µg/ml	10mM NaP, 100mM NaCl, pH 7.0 400 µg/ml	10mM NaP, 100mM NaCl, 0.005% Tween 80, pH 7.0 400 µg/ml
	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)
	SEC	SEC	SEC	SEC
	TP	TP	TP	TP
	SDS	SDS	SDS	SDS
1	102	n.d.	n.d.	110
3	105	n.d.	100	107
6	A	A	87	95
9	A	A	95	102
12	A	A	98	99
15	A	A	89	94
	A	A	-Ab§	87
	A	A		
	A	A		
	A	A		
	A	A		

Unterschrift

Offenbart an und verstanden von

Datum

Zeugen-Unterschrift

Datum

Datum

peg-EPO formulations (100/400 µg/ml)

30 °C

time (month)	10mM NaP, 140mM Na ₂ SO ₄ pH 6.2 100 µg/ml				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ 4 % Mammol, pH 6.2 100 µg/ml				10mM NaP, 100mM Na ₂ SO ₄ pH 7.0 100 µg/ml				10mM NaP, 100mM Na ₂ SO ₄ 0.005 % Tyceen 80, pH 7.0 100 µg/ml			
	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS
1	103	n.d.	-	-	106	n.d.	-	-	89	n.d.	-	-	100	n.d.	-	-
3	97	n.d.	-	-	96	n.d.	-	-	97	96	-	-	99	96	-	-
6	A	A	A	A	A	A	A	A	90	97	-	-	95	93	-	-
9	A	A	A	A	A	A	A	A	89	93	-	-	90	86	-	+
12	A	A	A	A	A	A	A	A	90	92	-	+	82	86	+	++
15	A	A	A	A	A	A	A	A	79	84	-	++	77	73	+	+++
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								

40 °C

time (month)	10mM NaP, 140mM Na ₂ SO ₄ pH 6.2 100 µg/ml				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ 4 % Mammol, pH 6.2 100 µg/ml				10mM NaP, 100mM Na ₂ SO ₄ pH 7.0 100 µg/ml				10mM NaP, 100mM Na ₂ SO ₄ 0.005 % Tyceen 80, pH 7.0 100 µg/ml			
	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS
1	88	n.d.	-	-	98	n.d.	-	-	88	n.d.	-	-	79	n.d.	-	-
3	67	n.d.	-	-	78	n.d.	-	-	64	89	-	-	58	81	+	++
6	A	A	A	A	A	A	A	A	56	82	+	+	48	71	+	+++
9	A	A	A	A	A	A	A	A	52	75	+	+	53	61	+	+++
12	A	A	A	A	A	A	A	A	46	67	+	+	46	63	+	+++
15	A	A	A	A	A	A	A	A	42	65	+	+	42	51	+	+++
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								

§ = Abbau im reduzierten SDS - Page

A = Stabilität abgebrochen

pegepo11+13_0.01_0.05_stability_data.doc

peg-EPO formulations (10/50 µg/ml)

4°C

time (month)	10mM NaP, 10mM Na ₂ SO ₄ pH 6.2				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ 4% Mannitol, pH 6.2				10mM NaP, 100mM NaCl pH 7.0				10mM NaP, 100mM NaCl 0.005% 1.0830, pH 7.0			
	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS
1	115	n.d.	-	-	100	n.d.	-	-	82	n.d.	-	-	105	n.d.	-	-
3	117	n.d.	-	-	99	n.d.	-	-	97	114	-	-	99	100	-	-
6	A	A	A	A	A	A	A	A	95	112	-	-	99	90	-	-
9	A	A	A	A	A	A	A	A	96	107	-	-	98	98	-	-
12	A	A	A	A	A	A	A	A	95	114	-	-	99	97	-	-
15	A	A	A	A	A	A	A	A	96	105	-	-	98	95	-	+
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								

25°C

time (month)	10mM NaP, 10mM Na ₂ SO ₄ pH 6.2				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ 4% Mannitol, pH 6.2				10mM NaP, 100mM NaCl pH 7.0				10mM NaP, 100mM NaCl 0.005% 1.0830, pH 7.0			
	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS	recovery (%)	SEC	IP	SDS
1	115	n.d.	-	-	99	n.d.	-	-	106	n.d.	-	-	99	n.d.	-	-
3	115	n.d.	-	-	104	n.d.	-	-	97	106	-	-	88	93	-	-
6	A	A	A	A	A	A	A	A	79	109	-	-	82	88	-	-
9	A	A	A	A	A	A	A	A	85	103	-	-	81	74	-	-
12	A	A	A	A	A	A	A	A	82	102	-	-	77	80	-	-
15	A	A	A	A	A	A	A	A	80	84	-	-	76	69	-	++
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								
	A	A	A	A	A	A	A	A								

Unterschrift

Offenbart an und verstanden von

Datum

Zeugen-Unterschrift

Datum

Datum

22. Feb. 2005

TITEL _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt _____

Seite 1 von 40

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000307pegepo14.doc

Stabilität PEG-EPO (36 Monate)

Start: 07.März 2000

Material:

- peg-EPO in 10mM Na/KP, 100mM NaCl, pH 7.0, Ch.6020 c = 1.68 mg/ml
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, Id.-Nr. 013978-001
- NaOH, Id.-Nr. 0241962-001
- Mannitol, Sigma, M-8429
- Na_2SO_4 , Id.-Nr. 61467
- Acetonitril, Fa. Baker, Nr. 9017
- TFA, Fa. Perkin Elmer, Nr.400003
- 10 ml Injektionsflaschen, DIN 58366,(Fiolax-Klarglas), Id.-Nr. 0694169
- Gummistopfen, grau, teflonisiert, Fa. Daikyo, 777-1/B2-40 Stopper, Lot number 960191
- Bördelkappen N20, Art.Nr. 220024, Fa. Ziemer
- Sterilfilter: - für Flüssigkeiten: SLGV 025, 0.22 μm , Millipore
 - für Gase: Midisart 2000, 0.2 μm , Sartorius
- alle Lösungen wurden vor Einlagerung in sterile 10 ml Glasflaschen sterilfiltriert (0.22 μm) und auf dem Kopf stehend unter Lichtausschluß gelagert



22. Feb. 2005

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift		Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 2 von 40

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000307pegepo14.doc

Variationen:Puffer:

- 1.) 10mM NaP, 120mM Na₂SO₄, pH 6.2 (Optimix®)
- 2.) 10mM NaP, 40mM Na₂SO₄, 3 % Mannitol pH 6.2 (Mannimix®)

Konzentration:

- A.) 400 µg/ml
- B.) 50 µg/ml

Lagertemperaturen:

- 4 °C
- 25 °C
- 30 °C
- 40 °C
- zusätzlich wurden Proben mit N₂
(Verhinderung v. Oxidation) überschichtet

Analytik:RP – HPLC

Säule: Vydac Polymer, 4.6mm x 150mm, Best.Nr. 259VHP5415

Fluß: 1 ml/min

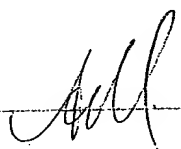
Detektion: 220 nm

Gradient:	min	%B
	3	30
	10	50
	30	70
	31	100
	36	100
	37	30
	47	30

Säulentemperatur: 40 °C

Eluent A: 0.13 % TFA

Eluent B: 84 % Acetonitril, 0.1 % TFA



 22. Feb.
2005

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 3 von 40

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000307pegepo14.doc

SEC

Säule: 2 x Superose 6, Code Nr.17-0537-01, Fa. Pharmacia

Eluent: 50mM NaP, 300mM NaCl, pH 6.8

Fluß: 0.4 ml/min

Detektion: 220 nm

SDS-Page:

- 8 - 16 % - Tris/Glycin – Gel (ohne SDS), Fa. Novex, Nr. EC6045
- Tris – Glycin – SDS - Sample – Puffer, Fa. Novex, Nr. LC2676
- Laufpuffer: 192mM Glycin, 25mM Tris, 0.1 % SDS
- Probe 3 min bei 90 °C mit Sample – Puffer behandelt
- Reduktion: 50 mM DTT, BM 1583786

Meßdaten abgelegt unter:

- tr-i_macintosh on `Rpzms000023`\tr-ca\datakt\2000_01\adlberga\chrom\shimadzu\donald bzw. daisy

Oxidationsdaten(Sialinsäuren) abgelegt unter: U_adlberga\excel00\Übersichtstabelle der Ergebnisse unter:

U_adlberga\doc00\doc0200\pegepo14+16_0.05(0.4)_stability_data.doc



22. Feb. 2005

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 4 von 40

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000307pegepol4.doc

Meßergebnisse:

Wiederfindung peg-EPO [%]

rp-HPLC

Optimix®

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
3 m	114	97	96	91	111	109	106	96
6 m	102	97	92	86	107	96	101	90

Mannimix®

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
3 m	112	99	99	95	114	111	112	106
6 m	99	98	98	93	110	100	100	99
9 m	100	101	97	85	113	114	111	95
12 m	101	101	101	87	115	113	110	91
15 m	96	97	95	74	98	97	105	79
18 m	97	96	95	69	111	109	102	72
21 m	101	99	96	67	108	106	99	65
24 m	94	93	92	54	107	100	98	58
27 m	95	92	91	48	98	104	96	51
30 m	100	100	104	52	95	91	81	47
33 m	108	101*	100**	40	108	96**	42*	30
36 m	98	101*	99**	38	94	84**	28*	24

*Reserveflasche (in Originalflasche Schimmel) ** Probe verschimmelt

Mannimix® (N₂ überschichtet)

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
18 m	96	98	91	49	105	89	91	57

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

TITEL _____

Laborbuch Nr. _____

Fortsetzung von Seite _____

Projekt-Nr. _____

Seite 5 von 40

Andreas Adlberger, TR-CA4

U_adlberga\doc00\doc0300\V000307pegepol4.doc

SEC
Optimix®

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
1 m	99	97	96	93	98	100	98	89
3 m	97	99	101	90	100	98	96	86
6 m	98	96	93	73	95	90	89	71

Mannimix®

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
1 m	98	96	100	106	101	101	101	100
3 m	103	104	107	97	101	103	103	91
6 m	101	101	101	77	97	98	96	76
9 m	102	101	99	73	99	98	97	78
12 m	103	105	101	70	100	100	98	75
15 m	106	104	100	59	99	100	96	64
18 m	103	102	100	51	99	97	96	59
21 m	100	100	96	47	96	96	94	52
24 m	101	100	96	41	95	94	86	49
27 m	104	103	101	35	96	97	86	47
30 m	108	104	104	31	95	91	83	40
33 m	98	104*	99**	23	94	96**	68*	22
36 m	111	109*	105**	24	95+	80**	24*	18

*Reserveflasche (in Originalflasche Schimmel), ** Probe verschimmelt

+ Reserveflasche (in Originalflasche zu wenig Probe)

Mannimix® (N₂ überschichtet)

	400 µg/ml				50 µg/ml			
	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C	4 °C	25 °C	30 °C	40 °C
18 m	108	106	97	22	97	89	87	46

N₂ überschichtet (6 Monate/25 °C): 1A (96 %), 1B (78 %), 2A (103 %), 2B (94 %)

22. Feb. 2005

Fortsetzung folgt auf Seite _____

Unterschrift			Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift	Datum

pegepo14+16_0.4_stability_data.doc

peg-EPO formulations (400 µg/ml)

4 °C

time (month)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Optum®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannum®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol, 7.5µm CaCl ₂ , pH 6.2				50mM Arginin, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2			
	SEC	TP	recovery (%)	aggregation	SEC	TP	recovery (%)	aggregation	SEC	TP	recovery (%)	aggregation	SEC	TP	recovery (%)	aggregation
1	99	n.d.	-	-	98	n.d.	-	-	107	n.d.	-	-	104	n.d.	-	-
3	97	114	-	-	103	112	-	-	113	93	-	-	109	96	-	-
6	98	102	-	-	101	99	-	-	111	84	-	-	106	96	-	-
9	A	A	A	A	102	100	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	103	101	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	106	96	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A

25 °C

time (month)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Optum®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannum®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol, 7.5µm CaCl ₂ , pH 6.2				50mM Arginin, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2			
	SEC	TP	recovery (%)	aggregation	SEC	TP	recovery (%)	aggregation	SEC	TP	recovery (%)	aggregation	SEC	TP	recovery (%)	aggregation
1	97	n.d.	-	-	96	n.d.	-	-	108	n.d.	-	-	105	n.d.	-	-
3	99	97	-	-	104	99	-	-	113	94	-	-	109	96	-	-
6	96	97	-	-	101	98	-	-	113	95	-	-	104	96	-	-
9	A	A	A	A	101	101	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	105	101	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	104	-	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A

§ = Abbau im reduzierten SDS – Page

A = Stabilität abgebrochen

Unterschrift

Offenbart an und verstanden von

Datum

Zeugen-Unterschrift

Datum

peg-EPO formulations (400 µg/ml)

30 °C

time (months)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Optim.®)	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannitol®)	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol, 75µm CaCl ₂ , pH 6.2	50mM Arginine, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2
	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)
	SEC	SEC	SEC	SEC
	TP	TP	TP	TP
	SDS	SDS	SDS	SDS
1	96	n.d.	100	n.d.
3	101	96	107	94
6	93	92	101	94
9	A	A	99	97
12	A	A	101	A
15	A	A	100	A
	A	A		A
	A	A		A
	A	A		A
	A	A		A
	A	A		A

40 °C

time (months)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Optim.®)	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannitol®)	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol, 75µm CaCl ₂ , pH 6.2	50mM Arginine, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2
	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)	recovery (%)
	SEC	SEC	SEC	SEC
	TP	TP	TP	TP
	SDS	SDS	SDS	SDS
1	93	n.d.	106	n.d.
3	90	91	97	91
6	73	86	77	71
9	A	A	73	44
12	A	A	70	A
15	A	A	59	A
	A	A		A
	A	A		A
	A	A		A
	A	A		A
	A	A		A
	A	A		A

§ = Abbau im reduzierten SDS – Page

A = Stabilität abgebrochen

Unterschrift	Datum	
Offenbart an und verstanden von	Datum	Zeugen-Unterschrift
		Datum

pegepo14+16_0.05_stability_data.doc

peg-EPO formulations (50 µg/ml)

4°C

time (month)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Optimix®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannmix®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol, 7.5mM CaCl ₂ , pH 6.2				50mM Arginine, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2			
	recovery (%)	SEC	rp	SDS	recovery (%)	SEC	rp	SDS	recovery (%)	SEC	rp	SDS	recovery (%)	SEC	rp	SDS
1	98	n.d.	-	-	101	n.d.	-	-	105	n.d.	-	-	103	n.d.	-	-
3	100	111	-	-	101	114	-	-	100	106	-	-	101	102	-	-
6	95	107	-	-	97	110	-	-	98	106	-	-	101	103	-	-
9	A	A	A	A	99	113	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	100	115	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	99	98	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A

25 °C

time (month)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Optimix®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannmix®)				10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol, 7.5mM CaCl ₂ , pH 6.2				50mM Arginine, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2			
	recovery (%)	SEC	rp	SDS	recovery (%)	SEC	rp	SDS	recovery (%)	SEC	rp	SDS	recovery (%)	SEC	rp	SDS
1	100	n.d.	-	-	101	n.d.	-	-	103	n.d.	-	-	101	n.d.	-	-
3	98	109	-	-	103	111	-	-	100	101	-	-	102	103	-	-
6	90	96	-	-	98	100	-	-	96	98	-	-	100	106	-	-
9	A	A	A	A	98	114	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	100	113	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	100	97	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A					A	A	A	A	A	A	A	A

§ = Abbau im reduzierten SDS - Page

A = Stabilität abgebrochen

Datum

Datum

Zeugen-Unterschrift

Datum

Offenbart an und verstanden von

Unterschrift

22 Feb. 2005

pegepo14+16_0.05_stability_data.doc

peg-EPO formulations (50 µg/ml)

30 °C

time (month)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Mannix®)	recovery (%)	aggregation	SEC	tp	SEC	SDS	recovery (%)	aggregation	SEC	SDS	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannix®)	recovery (%)	aggregation	SEC	SDS	50mM Arginin, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2	recovery (%)	aggregation	SEC	SDS
1	98	n.d.	-	-	n.d.	-	-	101	n.d.	-	-	101	n.d.	-	-	-	104	n.d.	-	-	-
3	96	106	-	-	112	-	-	103	112	-	-	99	105	-	-	-	102	103	-	-	-
6	89	101	-	-	100	-	-	96	100	-	-	94	101	-	-	-	99	103	-	-	-
9	A	A	A	A	111	-	-	97	111	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	110	-	-	98	110	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	105	-	+	96	105	-	+	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

40 °C

time (month)	10mM NaP, 120mM Na ₂ SO ₄ , pH 6.2 (Mannix®)	recovery (%)	aggregation	SEC	tp	SEC	SDS	recovery (%)	aggregation	SEC	SDS	10mM NaP, 40mM Na ₂ SO ₄ , 3% Mannitol pH 6.2 (Mannix®)	recovery (%)	aggregation	SEC	SDS	50mM Arginin, 100mM Na ₂ SO ₄ , 1mM CaCl ₂ , pH 6.2	recovery (%)	aggregation	SEC	SDS
1	89	n.d.	-	-	n.d.	-	-	100	n.d.	-	-	102	n.d.	-	-	-	104	n.d.	-	-	-
3	86	96	-	-	106	-	-§	91	106	-	-§	87	97	-	-	-§	91	94	-	-	-§
6	71	90	-	-	99	-	+	76	99	-	+	76	87	+	+	+	64	76	+	+	++Abb§
9	A	A	A	A	95	-	+	78	95	-	+	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	91	-	+	75	91	-	+	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	79	-	++	64	79	-	++	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A								A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

§ = Abbau im reduzierten SDS - Page

A = Stabilität abgebrochen

Unterschrift	Datum
Offenbart an und verstanden von	Datum
Zeugen-Unterschrift	Datum

2.2. Feb. 2005

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☒ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.